

Recombinant Human FTO Protein

产品编号	产品名称	包装
R0649S	Recombinant Human FTO Protein	50 μ g
R0649M	Recombinant Human FTO Protein	200 μ g

产品简介:

- 碧云天研发生产的Recombinant Human FTO Protein (EC 1.14.11.53), 也称Fat Mass and Obesity-associated Protein (FTO), 中文名为脂肪量和肥胖相关蛋白, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种RNA去甲基酶。FTO属于 α -酮戊二酸(α -Ketoglutarate, α -KG)和Fe(II)依赖的双加氧酶(Dioxygenase)家族, 可以有效去除单链RNA的m⁶A甲基化修饰[1, 2], 还可以催化ssRNA中3-甲基尿嘧啶(m³U)和ssDNA中3-甲基胸腺嘧啶(m³T)的氧化去甲基化[3]。FTO对单链核酸具有偏好性, 更倾向于ssDNA/RNA作为底物, 首选底物是甲基化的RNA [4]。
- FTO对ssDNA/RNA的m⁶A去甲基化的反应原理如下。FTO在体外以 α -酮戊二酸和Fe(II)依赖的方式催化m⁶A去甲基化时, 先将 α -酮戊二酸转化为琥珀酸(Succinate)和CO₂, 生成不稳定的羟甲基, 羟甲基再分裂成甲醛和去甲基碱, 并进一步转化为腺苷(Adenosine) [5]。

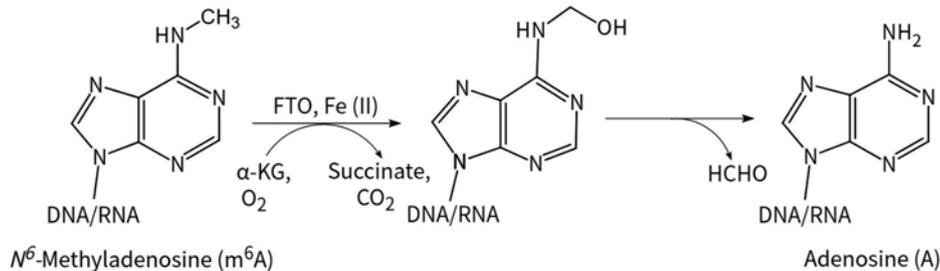


图1. FTO催化ssDNA/RNA的m⁶A去甲基化的反应图。

- FTO基因仅存在于脊椎动物和海藻中, 在脊椎动物的下丘脑、垂体和肾上腺中高表达[3, 6], FTO蛋白定位于细胞核中[7]。FTO与一系列代谢和神经退行性疾病包括肥胖、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎和阿尔茨海默症等密切相关[8]; FTO内的单核苷酸多态性(Single-nucleotide polymorphisms, SNPs)与肥胖以及子宫内膜癌、乳腺癌、胰腺癌和黑色素瘤等癌症有关。此外, FTO还有具有调节脂肪生成的作用; 多种癌症疾病包括急性髓性白血病、胶质母细胞瘤、宫颈鳞状细胞癌和黑色素瘤等都与FTO和m⁶A修饰失调相关[9], 因此FTO成为许多癌症精准医学的潜在靶点。
- 碧云天Recombinant Human FTO Protein去除ssDNA的m⁶A甲基化修饰的效果参考图2。

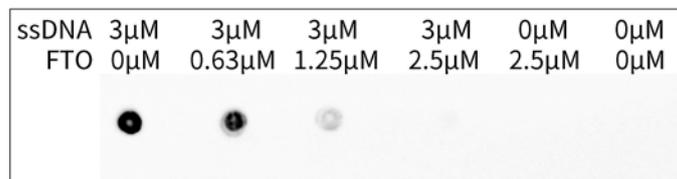


图2. 碧云天Recombinant Human FTO Protein (R0649)对ssDNA的m⁶A修饰的去甲基化效果图。在20 μ l反应体系中, 加入3 μ M的ssDNA和0/0.63/1.25/2.5 μ M FTO, 25 $^{\circ}$ C孵育2小时。孵育结束后, 取2.2 μ l (100ng ssDNA)反应产物滴至尼龙膜上, 待样品风干后, 进行紫外交联, 然后用Wash Buffer洗涤3分钟, 再用Blocking Buffer室温封闭2-3小时, 之后将膜转移至N⁶-Methyladenosine (m⁶A) Rabbit Polyclonal Antibody (AF7407)中, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。次日, 用Wash Buffer室温洗涤4次, 每次5分钟; 随后将尼龙膜浸泡在适当稀释的辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L) (A0208)溶液中, 室温孵育1小时。然后用Wash Buffer室温洗涤4次, 每次5分钟; 最后用BeyoECL Star (特超敏ECL化学发光试剂盒) (P0018A)进行化学发光, 并使用BeyoImager™ 600化学发光成像系统记录化学发光效果。实验结果如图2所示, 3 μ M的ssDNA用2.5 μ M FTO处理2小时, 可以基本去除其中的m⁶A甲基化。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 用途:** 适用于FTO酶动力学、抑制剂筛选和选择性分析。
- 来源:** 大肠杆菌表达的人源FTO基因。
- 纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶。
- 酶储存溶液:** 150mM NaCl, 50% (v/v) Glycerol, 50mM HEPES (pH8.0 @ 25 $^{\circ}$ C)。
- 失活或抑制:** 加入5mM EDTA, 随后95 $^{\circ}$ C处理5分钟。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0649S-1	Recombinant Human FTO Protein (1mg/ml)	50 μ l
R0649S-2	Reaction Buffer I (10X)	250 μ l
R0649S-3	Reaction Buffer II (10X)	250 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0649M-1	Recombinant Human FTO Protein (1mg/ml)	200 μ l
R0649M-2	Reaction Buffer I (10X)	1ml
R0649M-3	Reaction Buffer II (10X)	1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- 本产品使用时宜放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 由于涉及RNA和DNA操作, 须严格按照RNA和DNA操作的规范进行, 避免RNase和DNase污染。
- 实验中用到的吸头、离心管等实验耗材必须为RNase和DNase free的或须经DEPC处理, 推荐选购碧云天的BeyoGold™系列中无RNase和DNase污染的耗材产品。不含RNase和DNase的超纯水推荐使用碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)或DEPC水(DNase、RNase free) (R0021/R0022)。
- 桌面等环境以及仪器设备表面的RNase、DNase、RNA和DNA的去除推荐使用碧云天的RNase, DNase, RNA and DNA Away (R0127)进行快速处理。
- 可根据具体应用选择合适的操作方法, 可能需准备额外的试剂, 如RNase Inhibitor、超纯水等。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. **Recombinant Human FTO Protein对ssDNA/RNA的N⁶-methyladenosine (m⁶A) 去甲基化反应体系的设置。参考下表在冰浴中配制如下反应体系。**

Reagent	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	(15.4-x) μ l	-
Reaction Buffer I (10X)	2 μ l	1X
Reaction Buffer II (10X)	2 μ l	1X
ssDNA/RNA (100 μ M)	0.6 μ l (60pmol)	3 μ M
Recombinant Human FTO Protein (1mg/ml)	x μ l	\geq 0.136mg/ml (2.5 μ M)
Total Volume	20 μ l	-

注1: 如果只进行一个反应, 请把除Recombinant Human FTO Protein (1mg/ml)以外的组分充分混匀后, 再加入Recombinant Human FTO Protein (1mg/ml); 如果同时进行多个连接反应, 可以把上表中除ssDNA/RNA之外的所有溶液和酶提前预混合后分装到各反应管内, 再加入ssDNA/RNA, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀, 或用Vortex在最低速度轻轻混匀)后低速离心沉淀液体。

注2: 本反应体系中涉及单链RNA, 推荐适量添加RNase Inhibitor, Murine (R0101)、RNase Inhibitor (R0102)、RNase Inhibitor Plus, Human Placenta (R0105)或RNase Inhibitor, Human Placenta (R0106)。

注3: 实际使用过程中, 如果希望去甲基化程度更加充分, 可以适当增加FTO的用量。

2. 甲基化反应: 25°C孵育2小时。随后可直接通过点杂交等进行检测。
3. (可选)终止反应: 加入5mM EDTA, 随后95°C处理5分钟即可终止反应。
4. 其它用途可以参考上述用途或适当的文献资料进行。

参考文献:

1. Zhang M, Zhang Y, Ma J, Guo F, Cao Q, et al. PLoS One. 2015. 10(7):e0133788.
2. Huang M, Guo J, Liu L, Jin H, Chen X, et al. Front Cell Dev Biol. 2023. 11:1275475.
3. Jia G, Yang CG, Yang S, Jian X, Yi C, et al. FEBS Lett. 2008. 582(23-24):3313-9.
4. Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, et al. Nat Chem Biol. 2011. 7(12):885-7.
5. Zou S, Toh JD, Wong KH, Gao YG, Hong W, et al. Sci Rep. 2016. 6:25677.
6. Robbens S, Rouzé P, Cock JM, Spring J, Worden AZ, et al. J Mol Evol. 2008. 66(1):80-4.

7. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, et al. Science. 2007. 318(5855):1469-72.
8. Cheong A, Low JJA, Lim A, Yen PM, Woon ECY. Chem Sci. 2018. 9(36):7174-7185.
9. Azzam SK, Alsafar H, Sajini AA. Int J Mol Sci. 2022. 23(7):3800.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
A0208	辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)	1ml
AF6936	FTO Rabbit Polyclonal Antibody	50µl
AF7407	N6-Methyladenosine (m6A) Rabbit Polyclonal Antibody	50µl
FFN10	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 7.5×8.25cm, 0.45µm)	20张/包装
FFN11	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 7.5×8.25cm, 0.45µm)	100张/包装
FFN13	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 15×16.5cm, 0.45µm)	5张/包装
FFN15	尼龙膜(带正电荷, 进口原装, 30cm×3.3m/卷, 0.45µm)	1卷/包装
L02605	FTO基因敲除质粒	5µg
L02606	FTO基因敲除慢病毒	10 ⁸ TU
L02607	FTO基因敲除HEK293T细胞	1支/瓶
L02608	FTO基因敲除HEK293T细胞RIPA裂解液	100µg
L02609	FTO基因敲除HEK293T细胞Trizol裂解液	500µl
P0459	BeyoGel™ Plus PAGE预制胶(Tris-Gly, 12%, 15孔)	10/50块
QH09073S	Human FTO qPCR Primer Pair	200次
QM06090S	Mouse Fto qPCR Primer Pair	200次
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0101	RNase Inhibitor, Murine	2/10/50/200kU
R0102	RNase Inhibitor	2000/10000/50000U
R0105	RNase Inhibitor Plus, Human Placenta	2/10/50/200kU
R0106	RNase Inhibitor, Human Placenta	2/10/50/200kU
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
R0639	AlkB (RNA/DNA去甲基化酶, Nuclease-free)	200/1000/5000U
R0641	AlkB (D135S) (RNA m ¹ G去甲基化酶, Nuclease-free)	50/250/1250U
R0643	AlkB (D135S/L118V) (RNA m ₂ ² G去甲基化酶, Nuclease-free)	50/250/1250U
R0649	Recombinant Human FTO Protein	50/200µg
ST476	PBS (10X)	500ml
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml/500ml

Version 2025.02.13